

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

FACULTÉ DE MÉDECINE

Département de médecine
Département de pédiatrie
Division d'immunologie – allergie

Prof. A.F. Muller
Prof. L. Paunier
Prof. A. Cruchaud

ANALYSE DE FACTEURS IMMUNOLOGIQUES DANS LES INFECTIONS URINAIRES RÉCIDIVANTES DE LA PETITE FILLE

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par

Marie-Claire VONLANTHEN-DROUX
de Fribourg

Thèse N° 3727

Genève

ATAR S.A.

1979




Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE GENÈVE

FACULTÉ DE MÉDECINE

Département de médecine
Département de pédiatrie
Division d'immunologie – allergie

Prof. A.F. Muller
Prof. L. Paunier
Prof. A. Cruchaud

ANALYSE DE FACTEURS IMMUNOLOGIQUES DANS LES INFECTIONS URINAIRES RÉCIDIVANTES DE LA PETITE FILLE

THÈSE

présentée à la Faculté de médecine
de l'Université de Genève
pour obtenir le grade de docteur en médecine

par
Marie-Claire VONLANTHEN-DROUX
de Fribourg

Thèse N° 3727

Genève
ATAR S.A.
1979

La Faculté de médecine, sur le préavis des professeurs Alex F. Muller, Luc Paunier et André Cruchaud, autorise l'impression de la présente thèse, sans prétendre par là émettre d'opinion sur les propositions qui y sont énoncées.

Genève, le 16 février 1979

Le Doyen:
André Cruchaud

Thèse N° 3727



Je remercie le Docteur Jean-Pierre Girard de la Division d'Immuno-Allergie pour ses conseils et son aide, ainsi que le Professeur Luc Paunier pour sa participation à la réalisation de ce travail.

INTRODUCTION

La notion d'infection urinaire est définie par l'existence d'une bactériurie significative (10^5 germes par ml) avec ou sans manifestation clinique. Devant toute bactériurie, il est très difficile de déterminer s'il existe ou non une atteinte rénale, c'est la raison pour laquelle le terme général d'infection urinaire est utilisé sans préjuger de l'extension anatomique de l'infection (12).

Il est important de rappeler que les situations où existe une infection urinaire sans signes cliniques sont plus fréquentes que celles où la bactériurie est symptomatique (21).

Chez des enfants présentant pour la première fois une bactériurie, Kunin n'a trouvé des symptômes suggestifs d'une infection urinaire que dans un tiers des cas. Ces enfants suivis sur une période de dix ans présentent des symptômes d'infection urinaire dans 2/3 des récurrences (23).

L'infection urinaire récidivante est définie comme la réapparition d'une bactériurie significative après que l'on ait démontré une diminution du nombre de bactéries dans l'urine à moins de 1 000/ml une semaine après la fin du traitement.

Après l'âge de un an, l'infection urinaire est une maladie relativement spécifique des petites filles. En effet, la proportion filles/garçons varie de 2/1 à

30/1 lorsque l'on considère le problème de l'infection urinaire récidivante.

Pendant les premières années de vie, l'infection urinaire est considérée comme d'origine hématogène (4), tandis que l'opinion courante sur l'infection urinaire apparaissant pour tard admet qu'elle est d'origine ascendante à partir de l'orifice urétral (35). Selon Kunin, 80 % des récurrences sont dues à une réinfection par un nouvel organisme ou sérotype de la même souche et non pas à la persistance de l'infection initiale (23).

A la suite d'une première infection urinaire, Bergström a montré que 41 % des filles ont une récurrence dans l'année qui suit. Chaque traitement antibiotique permet à 20 - 25 % des petites filles d'entrer en rémission de longue durée, jusqu'au moment du mariage ou de la grossesse (4).

Les facteurs socio-économiques et la présence d'un reflux vésico-urétéral n'ont pas d'effet significatif sur l'incidence des récurrences.

Les récurrences tendent à être d'autant moins fréquentes que le temps écoulé depuis le dernier épisode est plus long, mais ces petites filles ont toujours un risque plus élevé que la population normale de présenter une nouvelle infection urinaire.

Une étude rétrospective montre un risque plus grand d'atteinte rénale lorsqu'existe une histoire d'infection urinaire récidivante, dans la petite enfance par rapport aux conséquences d'infection urinaire de l'âge adulte (3).

En 1969, Lindblad et Ekengren ont réexaminé des patientes qui avaient eu une infection urinaire non-obstructive 15-25 ans plus tôt dans l'enfance. Ils ont trouvé une réduction progressive du parenchyme rénal chez 19 % de ces femmes et chez 30 % de celles qui avaient eu des récurrences d'infection urinaire (26).

D'un temps d'observation de 6 mois à 7 ans, Bergström conclut que le risque de lésion rénale est d'au moins 4 % (3/75) chez des nouveau-nés avec infection urinaire, 5 % (2/44) chez des garçons de 1 à 16 ans et 7 % (7/100) chez des filles de 2 mois à 16 ans.

Moyens de défense immunologique :

En raison de problèmes techniques, le rôle de l'immunité cellulaire locale n'a guère été étudiée chez l'homme.

En revanche, l'immunité humorale a été intensément investiguée. Les anticorps produits localement dans le tractus urinaire et présents dans l'urine n'ont attiré l'attention que ces dernières années.

La complexité de la réponse immune dans l'infection urinaire est illustrée par l'hétérogénéité antigénique du groupe E-Coli qui se compose de nombreuses spécificités, soit : 150 O,90 K et 50 H antigènes.

Différentes méthodes ont été utilisées pour la mise en évidence d'anticorps sériques :

- technique d'agglutination bactérienne directe,

TABLEAU 1

Moyens de défense immunologique contre
les infections urinaires

a) Immunité humorale :

- immunité locale (IgAs)
- immunité générale (IgG, IgM)
- facteurs adjuvants (lysozyme, lactoferrine)

b) Immunité cellulaire :

- lymphocytes T
- lymphokines

c) Cellules phagocytaires :

- macrophages
- polynucléaires

- technique d'hémagglutination indirecte,
- méthode de précipitation au sulfate d'ammonium,
- enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA),

méthode récemment décrite par Perlmann et Engvall, dans laquelle l'antigène est fixé sur des perles acryliques et réagit avec l'anticorps. L'anticorps lié à l'antigène est détecté au moyen d'une anti-immunoglobuline conjuguée à une enzyme qui provoque un changement de couleur à l'adjonction du substrat. (10).

Les différents travaux réalisés jusqu'à présent ont visé presque exclusivement à la mise en évidence d'anticorps anti E-Coli 0. Beaucoup de travaux ont montré que la réponse immunologique sérique peut aider à établir si une infection urinaire est localisée au rein ou au tractus urinaire inférieur.

En effet, le premier travail de Needell, qui a été suivi de beaucoup d'autres, a montré que l'atteinte du parenchyme rénal donne lieu à une augmentation du titre sérique d'anticorps anti 0 tandis que les infections du tractus urinaire inférieur ne provoquent pas une augmentation significative du titre des anticorps sériques (30).

Hewstone et Whitaker ont localisé le site de l'infection au moyen du cathétérisme urétéral et ont noté des titres élevés d'anticorps sériques seulement chez les enfants avec cathétérisme urétéral positif (14).

Plus récemment, Jodal et ses collaborateurs ont étudié en détail la valeur diagnostique des anticorps sériques pour la localisation de l'infection urinaire sur la base de critères cliniques. Dans ce travail, 90 % des

enfants avec pyélonéphrite répondent par la formation d'anticorps sériques (détectés par la méthode d'hémagglutination indirecte). Seul 5 % des enfants avec cystite ont des titres aussi élevés. Cette distinction demande un timing adéquat dans la mesure de ces anticorps sériques : le pic de la production des anticorps apparaît deux semaines après le début de l'infection. Le titre des anticorps revient à des taux non significatifs entre le 40 et 70ème jour de l'infection (17). Le degré d'antigénicité croisée a été étudié par Andersen qui a montré que les réactions croisées entre les différents sérotypes sont fréquentes, mais donnent des titres d'hémagglutination indirecte beaucoup moins élevés (1). Cela a été également démontré par des expériences d'inhibition de l'hémagglutination indirecte.

La réponse immunologique locale :

La première méthode pour détecter une réponse immune locale dans le rein a été une technique d'immunofluorescence directe sur des coupes de reins de rats et de lapins atteints de pyélonéphrite expérimentale au moyen d'un anti-sérum anti-IgG. Une autre façon de mettre en évidence une production locale d'anticorps est l'étude de la synthèse in vitro des anticorps par l'incorporation d'acides aminés marqués au ^{14}C , en explants de tissu rénal. Cette dernière méthode n'est qu'un procédé de recherche nécessitant une grande quantité de tissu rénal et ne peut donc être faite sur des biopsies de rein.

Ces techniques ont permis de démontrer l'existence d'une réponse immune locale active dans le rein infecté, ce qui ne pouvait être simplement déduit de l'existence d'anticorps dans l'urine des malades atteints d'infection urinaire.

Cela a aussi rendu possible l'étude de la séquence des classes d'anticorps formés dans la réponse immune locale à l'infection. Les études d'immunofluorescence ont montré que le rein humain produit des IgA sécrétoires (IgA_S). La pièce sécrétoire a été mise en évidence dans le cytoplasme de l'épithélium tubulaire et se présente comme un dépôt linéaire à la surface de l'épithélium tubulaire (41). Dans le rein humain normal, la recherche d'IgA, IgG ou IgM déterminée par immunofluorescence demeure négative. Les travaux sur la synthèse des anticorps spécifiques utilisant l'incorporation d'acides aminés marqués au C14, dans la pyélonéphrite expérimentale à E-Coli (induite par voie hématogène ou rétrograde chez le lapin) ont montré une synthèse prédominante d'IgG dès le 11^{ème} jour et persistant jusqu'au 120^{ème} jour de l'infection et une synthèse d'IgA dès le 30^{ème}, toutefois en quantité inférieure à celle de l'IgG (27).

La majeure partie de l'IgA synthétisée par le rein pyélonéphritique de lapin était précipitée par un sérum anti-pièce sécrétoire et migrail électrophorétiquement comme l'IgA du colostrum.

La synthèse d'anticorps par la vessie à la suite d'une infection urinaire basse chez le lapin a été également étudiée. Les auteurs de ce travail ont détecté une augmen-

tation de la synthèse d'anticorps au dixième jour de l'infection. L'immunoglobuline produite est constituée essentiellement d'IgG (13).

La réponse immune locale chez l'homme n'a été évaluée que dans deux reins pyélonéphritiques prélevés chirurgicalement. L'auteur a observé une synthèse d'IgG surtout, la synthèse d'IgA étant moins importante quantitativement (36).

La réponse immune cellulaire locale :

La réponse immune cellulaire locale a été étudiée récemment dans la pyélonéphrite expérimentale de lapin. Les lymphocytes circulants et les lymphocytes isolés à partir de reins infectés ont été testés pour la synthèse de DNA dans des conditions de base et en réponse à des stimulants non spécifiques comme la phytohémagglutinine, le "poke-weed mitogen" et à un antigène E-Coli spécifique (37).

Ces résultats montrent que les lymphocytes tissulaires diffèrent des lymphocytes circulants par une absence de réponse aux stimulants non spécifiques (mitogènes). L'antigène E-Coli stimule la synthèse d'ADN mesurée par l'incorporation de thymidine tritiée dans les lymphocytes circulants du jour 5 au jour 50 de l'infection urinaire expérimentale. En revanche, les lymphocytes tissulaires ne sont stimulés par cet antigène qu'à partir du 19ème jour et ceci jusqu'au 35ème de l'infection.

L'accroissement significatif de cette réponse

des lymphocytes provenant de l'organe infecté montre une bonne corrélation avec le pic de la synthèse des anticorps IgA_s et ceci à un moment où les bactéries ont perdu leur viabilité.

Jusqu'à ce jour, la mesure des lymphokines (MIF, LIF, MF) n'a jamais été utilisée comme mesure de la participation de l'immunité cellulaire, dans les infections humaines ou expérimentales de l'appareil urinaire.

Les immunoglobulines urinaires :

Les urines humaines contiennent des IgG, IgA et IgE tandis que les IgM et IgD sont rarement présentes (42, 43).

On a démontré que l'IgG est une molécule d'IgG 7S intacte. L'IgA urinaire est surtout de type sécrétoire. Cette IgA sécrétoire a une structure différente de l'IgA sérique. L'IgA_s est une molécule dimérique 11S de PM 380000 avec une pièce sécrétoire qui réunit les deux monomères 7S. La pièce sécrétoire est une glycoprotéine qui est responsable des propriétés chimiques et antigéniques uniques de la molécule (40, 47). Elle est aussi responsable de la plus grande résistance de cette molécule à l'action des enzymes protéolytiques dans le milieu défavorable des diverses sécrétions (6).

On trouve cette immunoglobuline dans les sécrétions externes : lacrymales, respiratoires, gastro-intestinales, mammaires et génito-urinaires.

La majorité de l'IgA_s est synthétisée localement dans les plasmocytes des sous-muqueuses. La pièce sécrétoire synthétisée dans les cellules épithéliales se lie à l'IgA au moment où celle-ci traverse l'épithélium ou à la surface de la lumière de la glande.

Dans l'IgA_s humaine on trouve encore une protéine de petit poids moléculaire qui semble fonctionner comme point d'union des molécules d'immunoglobulines polymériques comme l'IgA et l'IgM et qu'on appelle la chaîne J ("junction chain").

Les sécrétions vésicales contiennent de l'IgA en plus grande quantité que l'IgG et le rapport IgA/IgG est plus grand dans ces sécrétions que dans le sérum (11).

Activité anticorps dans l'urine :

Une activité anticorps a été démontrée dans l'urine humaine normale, dirigée contre diverses bactéries, des toxines bactériennes et des virus.

Des anticorps de la classe IgA_s spécifiques pour le virus poliomyélitique, le toxoïde tétanique et les antigènes flagellaires des entérobactériacées ont été mis en évidence. Une analyse des anticorps présents dans l'urine de patients avec infection urinaire a été faite au moyen de la technique ELISA. Les anticorps anti-bactériens appartiennent à la classe des IgA et IgG. Dans cette étude, l'activité anticorps dans l'urine des patients infectés n'a montré que peu de corrélation avec l'activité anticorps sérique (18).

Ces travaux démontrent indirectement l'existence d'une immunité locale responsable de la synthèse d'une partie des anticorps spécifiques trouvés dans l'urine des malades atteints d'infection urinaire.

Un autre mécanisme peut également participer à l'augmentation des immunoglobulines urinaires dans l'infection urinaire, soit une atteinte de la fonction tubulaire avec diminution de la réabsorption des protéïnes.

Dans un travail récent, Thomas et ses collaborateurs ont mis en évidence, par une technique d'immunofluorescence indirecte, des anticorps localisés sur les parois des bactéries du sédiment urinaire de malades atteints d'infection urinaire. Sur un total de 35 patients atteints cliniquement de pyélonéphrite, 34 avaient ces anticorps qui n'étaient retrouvés par ailleurs que chez un malade sur les 20 présentant une cystite (39).

Utilisant des antisera monospécifiques fluorescents, les auteurs ont montré que tous les tests positifs étaient constitués d'IgG agglutinées autour des bactéries. L'IgA n'était présente que dans la moitié des cas, et l'IgM dans 40 % des cas. Cette technique est intéressante parce que simple, ne nécessitant pas de préparation antigénique, puisque les bactéries du sédiment constituent l'antigène. De plus, il n'est pas nécessaire de concentrer les urines.

Les auteurs proposent ce test comme aide au diagnostic différentiel entre une pyélonéphrite et une cystite.

Quelles sont les relations entre la réponse immunitaire et le cours de l'infection ?

Dans l'infection expérimentale du rat, la pyélonéphrite produite par E-Coli est aiguë et guérit spontanément. Cette guérison est associée à une formation d'anticorps sériques importante (34).

En revanche, une souche de klebsielle qui ne produit pas d'anticorps sériques est la cause d'une pyélonéphrite persistante.

Bien que chez l'homme, l'infection urinaire peut persister en présence de taux élevés d'anticorps sériques, une fonction protectrice de ces anticorps ainsi que des anticorps locaux IgA_s est très vraisemblable.

But du travail :

Nous avons étudié un certain nombre de paramètres immunologiques chez des petites filles atteintes d'infections urinaires récidivantes.

Seize petites filles âgées de 2 à 7 ans (Groupe I) ont été investiguées ainsi que quatorze enfants normaux d'âge correspondant (groupe II).

Chez les enfants du groupe I, nous avons procédé à un examen de la fonction rénale :

- dosage de la créatinine et de l'azote uréïque,
- mesure de la clearance à la créatinine,
- mesure de la clearance isotopique,
- test du pouvoir de concentration urinaire.

et à une recherche de malformations rénales avec des examens radiologiques :

- urographie,

- cystographie mictionnelle,
si ces examens n'avaient pas été faits auparavant.

Un uricult a été fait chez les enfants des deux groupes. Les germes obtenus de l'uricult nous ont servi à la préparation de nos antigènes pour les différents tests immunologiques.

MATERIEL ET METHODES

Récolte des urines :

Les urines de 24 heures ont été récoltées. Il leur a été ajouté 200 mg/l d'azide de sodium pour enrayer la prolifération bactérienne. Les urines sont conservées à 4°C. Elles sont filtrées sur papier Whatman n° 1. La détermination en protéïnes a été faite selon la méthode du Biuret. Les urines sont concentrées jusqu'à une concentration protéïnique de 25 g/l par ultra-filtration sur membrane Amicon UM-10 sous une pression de 2,5 Atm. d'azote, puis sur Minicon B 15.

Les urines concentrées sont divisées en plusieurs aliquots et conservées jusqu'à utilisation à - 18°C.

Dosage des immunoglobulines sériques et urinaires

Les IgG, IgA et IgM ont été mesurées à l'aide d'Immuno-plates Hyland (méthode de diffusion radiale).

Les IgE ont été mesurées au moyen d'un radio-

TABLEAU 2

TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES UTILISEES

- Détermination des anticorps bactériens spécifiques par immunofluorescence indirecte, urine, sérum (antisera mono et polyvalents).
- Détermination des anticorps opsonisants dans l'urine et dans le sérum.
- Dosage des immunoglobulines sériques et urinaires.
- Stimulation lymphocytaire.

immunoassay (Pharmacia, Uppsala, Suède). Cette technique a été mise au point par Johansson : des anticorps anti-IgE sont préparés chez la chèvre ou le mouton. Ces anticorps sont fixés par du BrCn sur des disques de papier. Les IgE sériques sont révélés par leur fixation à l'anti-sérum marqué.

Les IgA_s ont été mesurées par la méthode de diffusion radiale en utilisant un sérum de lapin immunisé contre l'IgA du colostrum comme antigène et comme standard l'IgA du colostrum purifiée, selon la méthode décrite par Tomasi et coll. (40), par passage sur colonne de Séphadex G200.

Détection des anticorps spécifiques par immuno-fluorescence indirecte :

Nous avons utilisé comme anti sérum des antisera polyvalents (Institut Pasteur, Paris), des antisera fluorescents monovalents IgG, IgM et IgA (Dako, Copenhagen) et un sérum anti-IgA_s préparé dans notre laboratoire selon la méthode décrite par Brandtzaeg (5).

Pour le groupe I, les bactéries cultivées à partir des uricuits de chaque malade ont été utilisées comme antigène. Pour avoir un point de comparaison entre les deux groupes, nous avons effectué le même test avec comme antigène une souche E-Coli 075 (sérotipe que l'on retrouve fréquemment dans les voies urinaires (22)).

Un étalement bactérien (à partir d'une culture fraîchement repiquée) est fixé au méthanol sur une lame

porte-objet. Le sérum ou l'urine à tester est déposé sur le frottis pendant trente minutes en atmosphère humide à 37°C.

Après trois lavages avec un tampon phosphate (pH 7,2), l'anti-sérum fluorescent est déposé sur le frottis pendant trente minutes en atmosphère humide à 37°C. Les lames sont ensuite examinées en lumière ultra-violette sur fond noir (microscope Wild). Pour détecter l'éventuelle présence d'anticorps anti E-Coli dans les antisera fluorescents, nous avons effectué un contrôle pour chaque souche bactérienne en ne réalisant que le second temps de l'opération.

Recherche des anticorps opsonisants :

Des leucocytes sont récoltés par simple sédimentation de sang hépariné, ils sont lavés trois fois avec un tampon phosphate de pH 7,2. Ils sont ensuite resuspendus dans ce même tampon et ajustés à $10^4/\text{mm}^3$. Ils sont incubés (0,1 ml de la suspension) à 37°C pendant trente minutes en présence d'E-Coli et de sérum, ou d'E-Coli et d'urine concentrée, d'E-Coli et sérum physiologique pour les contrôles.

Après lavages (avec du tampon phosphate pH 7,2) les cellules sont étalées sur une lame et le frottis coloré au May-Grünwald-Giemsa.

Le nombre de bactéries phagocytées par leucocyte est divisé par le nombre de leucocytes comptés (100) : on obtient ainsi un indice opsonique.

Stimulation lymphocytaire :

Du sang hépariné est prélevé (50 U d'héparine/ml). Les cellules lympho-monocytaires sont séparées par passage sur Ficoll-Isopaque (Böyum, 1968). Après trois lavages en milieu de Hanks (Difco Lab. Detroit, USA) les cellules sont réparties dans les puits de plaques sérologiques (Microplates Falcon, Oxnard, Cal, USA) à raison de 3×10^5 cellule par puits, en milieu TC 199 (Difco lab.) enrichi de 10 % de sérum AB humain provenant d'un pool de donneur.

Les agents stimulants suivants sont utilisés : PHA-P 1 : 50 (Difco Lab.), PPD 0,5 M/ 10^6 cell. (Staaten Serum Institute, Copenhagen, Denmark), Candida albicans 1 : 100 0,1 ml/ 10^6 cell. (Antigènes Merieux, Lyon, France), Streptokinase-Streptodornase (Varidase, Lederlé) 250 µg/ 10^6 cell. et lipopolysaccharides d'un mélange d'E-Coli (Difco Lab.) 10 mcg/ 10^6 cell.

Après une incubation de 4 jours à 37° dans une atmosphère CO₂/air, de la thymidine tritiée, 1 µC / 10^6 cell., (NEN Chemical, Allemagne) est ajoutée aux cultures. Après une incubation complémentaire de 12 heures, toutes les cultures faites en triplicat sont récoltées au moyen d'un appareil de récolte semi-automatique (Skatron, Bergen, Norvège) et l'activité mesurée dans un compteur à scintillation liquide Packard.

RESULTATS

Chez 13 filles du groupe I (76,5 %), l'uricuit a été positif (au moins 10^5 germes par ml d'urine). L'examen microbiologique a montré qu'il s'agissait dans tous les cas d'un E-Coli. Nous n'avons pas procédé à la typisation sérologique de ces bactéries. Cet examen a été négatif chez tous les enfants utilisés comme témoins.

L'étude de la fonction rénale par la clearance isotopique et la clearance à la créatinine pratiquée chez les enfants du groupe I seulement n'a pas montré d'atteinte de la fonction glomérulaire. Le test du pouvoir de concentration montre une atteinte tubulaire chez une des enfants avec reflux opéré et présentant, malgré la bonne correction chirurgicale (absence de reflux vésico-urétéral à la cystographie mictionnelle), des infections urinaires fréquentes et chez une autre enfant sans malformation visible radiologiquement. Ces deux enfants n'avaient pas de bactériurie au moment du bilan.

Examens radiologiques :

L'urographie intra-veineuse s'est révélée normale chez 13 fillettes du groupe I. Un uretère bifide a été décrit chez 2 enfants ; chez la 3e fillette présentant une anomalie, une dysplasie rénale a été mise en évidence.

La cystographie mictionnelle n'a pas montré de reflux vésico-urétéral. Trois des enfants du groupe I opérées plus d'une année avant notre travail n'avaient plus de malformation radiologiquement visible.

La cystoscopie effectuée chez 8 enfants du groupe I (47 %) a montré des lésions compatibles avec une inflammation chronique chez 3 enfants, une cystite aiguë (muqueuse hémorragique, oedématisées) chez 1 enfant.

Les 4 autres cystoscopies montraient des vessies d'aspect normal.

Détermination du taux d'immunoglobulines :

a) Urines : les résultats de ces mesures sont représentés dans la figure 1 groupant les valeurs obtenues chez les patientes ainsi que chez les sujets témoins. Comme l'indique le tableau récapitulatif, les IgG sont la classe de loin la mieux représentée dans les urines suivie par les IgA.

Bien que les variations individuelles soient importantes dans les deux groupes, les concentrations d'IgG et d'IgA sont nettement supérieures dans les urines des patientes du groupe I et la différence avec les témoins est statistiquement significative ($p < 0,05$). En revanche, les taux d'IgM sont bas dans les deux groupes (elles sont parfois absentes) et la différence ici n'est pas significative. Enfin, dans les deux collectifs on note la présence d'IgE,

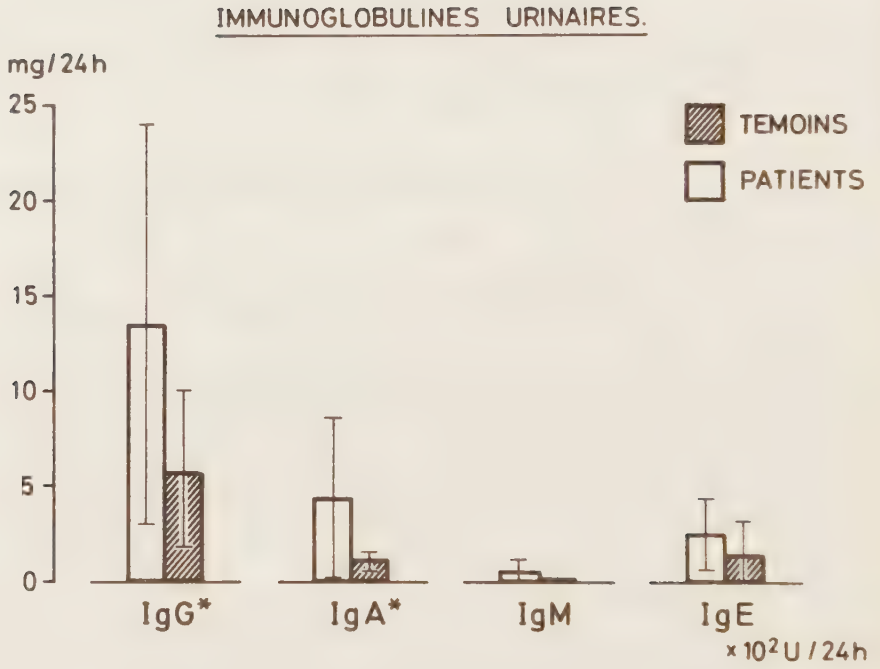


FIGURE I

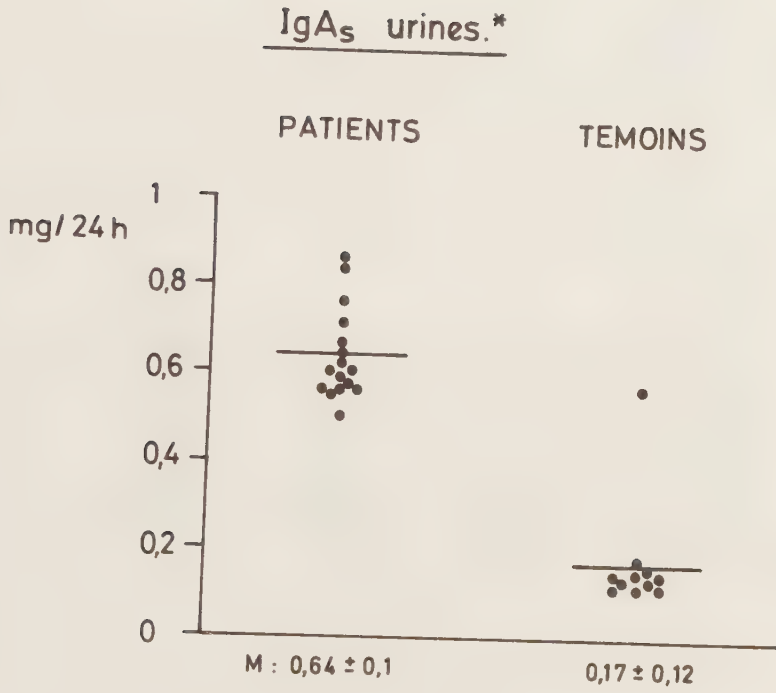


FIGURE 2

quoique en faible concentration, sans qu'il y ait de différence entre les deux collectifs.

Les résultats de la détermination des IgA sécrétoires (IgA_s) sont rassemblés dans la figure 2. Ici, également les valeurs sont nettement augmentées dans le groupe I, par rapport au collectif témoin et cette différence est statistiquement hautement significative ($p < 0,001$).

Toutefois, si l'on compare dans le groupe I les valeurs moyennes des IgA_s avec celles des IgA totales (fig. 1), on remarque que la concentration des IgA_s ne représente que le 1/8 de la concentration totale des IgA.

b) Sérum : les résultats du dosage des Ig sériques sont illustrés dans la figure 3. Malgré l'âge relativement bas des deux populations d'enfants, on notera que les valeurs moyennes ne sont pas très éloignées, pour les trois immunoglobulines majeures, de celles observées chez l'adulte. Les valeurs moyennes ainsi que les dispersions sont du même ordre de grandeur dans les deux collectifs d'enfants et il n'y a, statistiquement, pas de différence significative entre les deux groupes pour ces trois immunoglobulines. En revanche, une différence significative existe, malgré la forte dispersion, pour la mesure des IgE, les valeurs des sujets témoins étant nettement plus élevées.

Recherche d'anticorps spécifiques :

a) Technique d'immunofluorescence :

Les résultats de ces déterminations sont rassem-

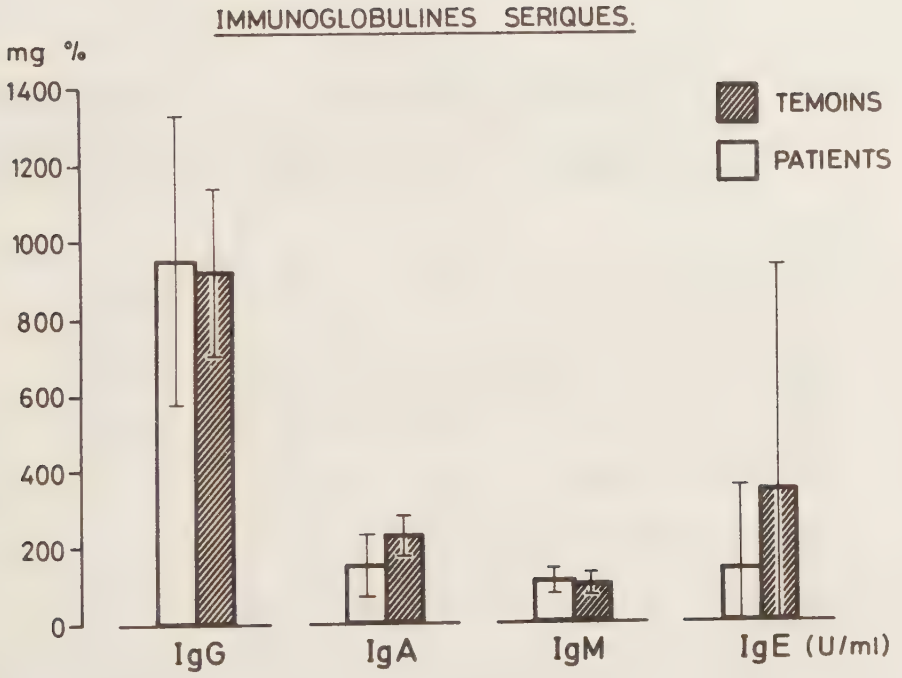


FIGURE 3

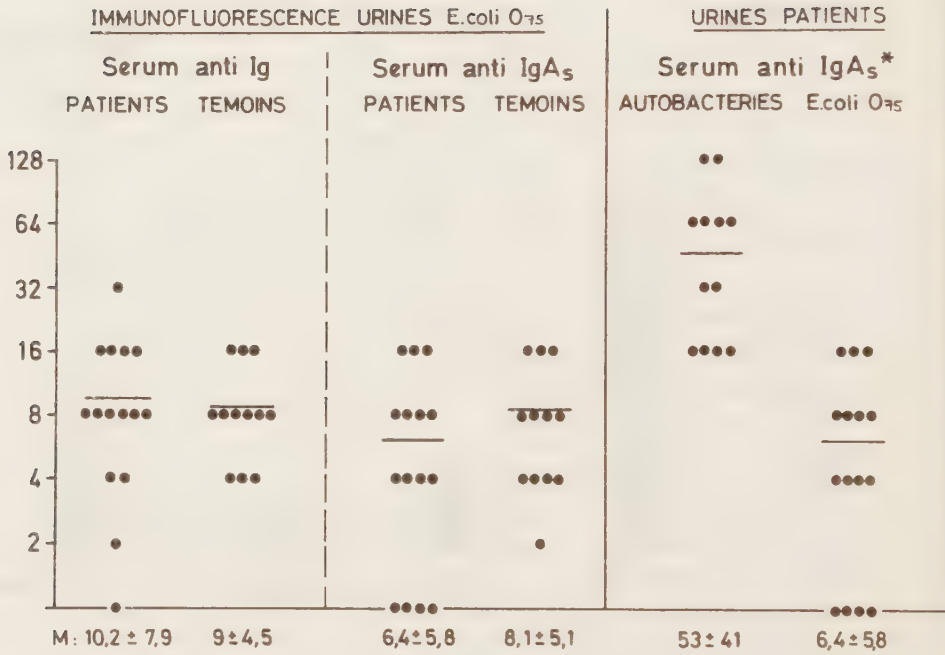


FIGURE 4

blés dans la figure 4. Dans une première série de tests, le titre d'anticorps (obtenus par dilution des urines) a été déterminé par un sérum anti-IgG ou un sérum anti-IgA_s (fluorescents, sur la souche d'E-Coli 075). Les titres d'anticorps sont très voisins pour les deux immunoglobulines et aucune différence n'apparaît en comparant les deux collectifs de sujets, soit les patientes et les témoins.

En revanche, lorsque le test d'immunofluorescence directe est pratiqué au moyen d'un sérum anti-IgA_s et ceci sur des bactéries cultivées à partir de l'urine des patientes (partie droite de la figure), le titre d'anticorps est nettement plus élevé que celui observé avec la souche E-Coli 075.

A noter que les anticorps spécifiques présents dans le sérum, vis-à-vis d'E-Coli 075, sont du même ordre de grandeur dans les deux collectifs de sujets. Quant au titre d'anticorps dirigés contre les bactéries des urines (groupe I), ils présentaient chez les patientes une très grande variabilité, avec quelques cas de valeurs très élevées.

b) Test d'opsonisation :

La recherche d'anticorps opsonisants aussi bien dans les urines que dans le sérum des enfants des deux groupes est représenté dans la figure 5. Qu'il s'agisse

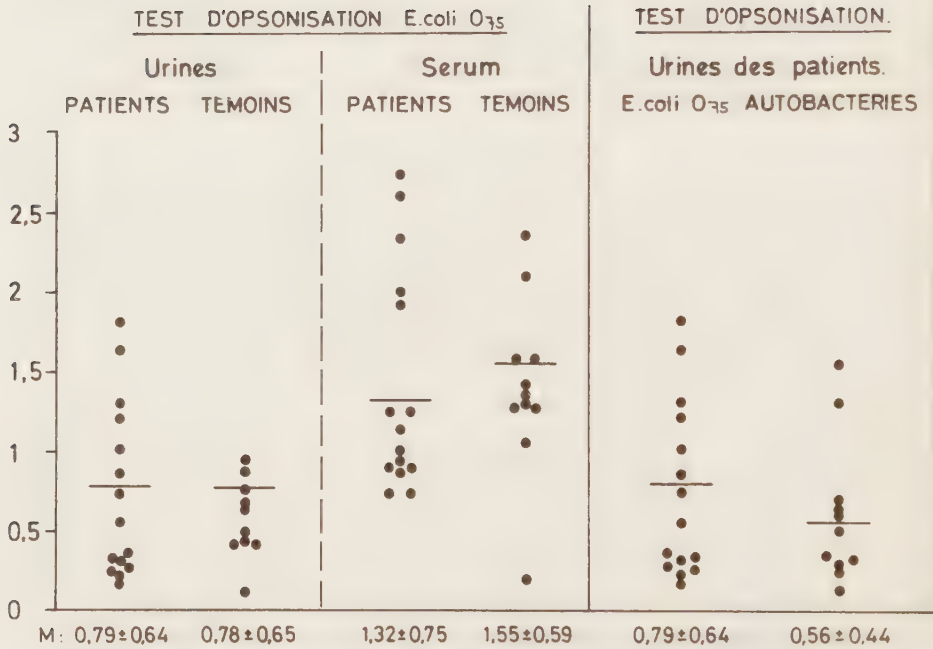


FIGURE 5

du sérum ou de l'urine, aucune différence significative n'a pu être relevée entre les deux groupes de sujets. Tout au plus peut-on noter une plus grande dispersion des résultats dans le groupe des patientes. De plus, si l'on compare l'indice opsonique en présence d'E-Coli 075 ou de bactéries cultivées dans les urines des patientes, une différence n'apparaît pas de manière évidente.

A noter que l'absorption de l'urine ou du sérum par un sérum anti-IgG élimine presque complètement la capacité d'opsonisation (non présenté dans la figure). Les anticorps sont donc dans leur presque totalité constitués d'anticorps IgG.

c) Stimulation lymphocytaire :

Les résultats des cultures lymphocytaires sont illustrés par la figure 6. Les moyennes des valeurs obtenues pour la stimulation lymphocytaire à la PHA sont dans les normes admises dans notre laboratoire. Ceci, pour les deux groupes analysés. Dans les deux groupes également, quelques sujets avaient des valeurs de l'ordre de 20 000 cpm, résultat considéré comme étant à la limite inférieure de la normale. Concernant les antigènes PPD, streptokinase-streptodornase et lipopolysaccharides, un certain nombre de sujets appartenant aux deux groupes présentaient des index de stimulation supérieurs à 1,5 sans toutefois qu'il y ait de différence significative entre les deux collectifs. En revanche, une réponse positive, in vitro, à candida albicans, a été observée

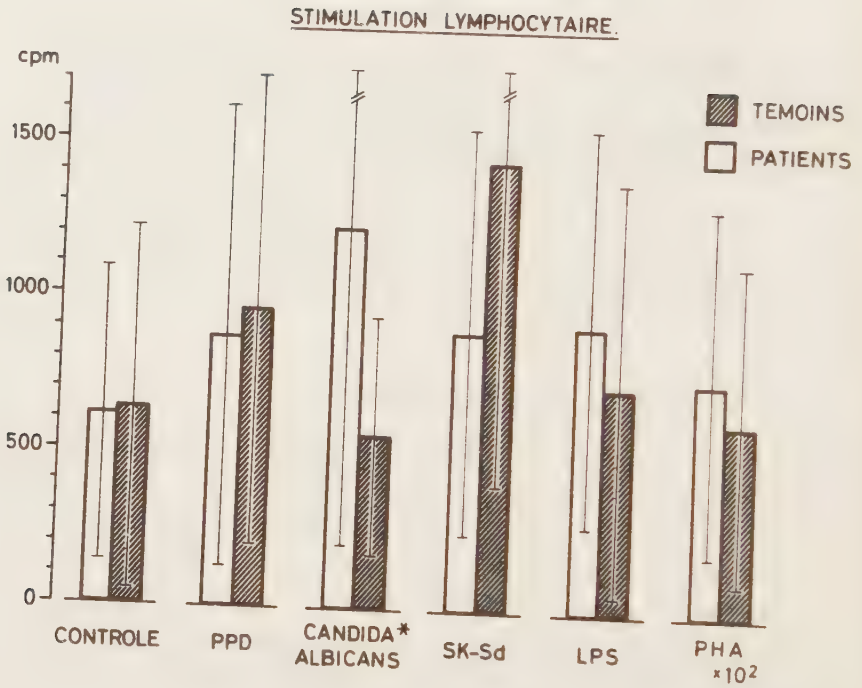


FIGURE 6

chez 50 % des enfants du groupe I, alors que dans le groupe témoin, seul 22,2 % des enfants avaient une réponse positive pour cet antigène.

Le pourcentage des réponses positives aux différents antigènes est indiqué dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Pourcentage des réponses positives
à différents antigènes.

	<u>PPD</u>	<u>Sd-Sk</u>	<u>Candida</u>	<u>Endotoxines</u>
Patientes	43 %	62 %	50 %	37,5 %
Témoins	66,6 %	44,4 %	22,2 %	33,3 %

DISCUSSION

Il existe dans la littérature médicale de nombreux travaux traitant des facteurs favorisants, de l'analyse bactériologique et de la réponse immune dans les infections urinaires récidivantes.

Les facteurs explicatifs de la prédisposition des petites filles pour l'infection urinaire sont multiples, même si l'on écarte de cette analyse les enfants présentant une malformation anatomique. En effet, comme l'ont démontré Mayo et Coll. (28), les bactéries peuvent pénétrer dans la vessie par le court trajet urétral malgré la forte pression vésicale, pendant la miction (15) et ceci malgré l'effet freinateur du mucus urétral. En revanche, la vessie du sujet mâle est protégée non seulement par la longueur du trajet urétral, mais aussi par les propriétés bactéricides du liquide prostatique, comme l'ont démontré Stamey et Coll. (38).

La contamination locale semble confirmée par le fait que dans la grande majorité des cas d'infection urinaire de la petite fille et de la femme, on trouve une étroite corrélation entre les souches bactériennes vulvaires et celles du tractus urinaire (8, 32).

Les travaux de Lindberg et Coll. (24) ont montré qu'un nombre relativement important (23 %) de bactériuries asymptomatiques guérissent spontanément, suggérant la présence de mécanismes protecteurs locaux efficaces.

Selon les mêmes auteurs, toutefois, la présence d'un volume résiduel dépassant 5 ml est un facteur favorisant l'infection récidivante, par un mécanisme de stagnation urinaire permettant la croissance bactérienne (25). Dans notre groupe de patientes, la cystographie mictionnelle n'a montré de reflux vésico-urétéral et de résidu vésical dans aucun des cas. Parmi les causes anatomiques prédisposantes, l'importance du reflux vésico-urétéral est certaine et entraîne presque toujours une réinfection. L'étude bactériologique des infections urinaires récidivantes a fait l'objet de nombreuses publications. Dans notre collectif de 16 patientes, l'uricuit a été 13 fois positifs, alors qu'il est demeuré négatif chez tous les contrôles.

Dans tous ces cas positifs, l'examen bactériologique a montré qu'il s'agissait d'E-Coli, à l'exclusion de tout autre germe. Depuis les travaux de Kunin (22), on sait que l'E-Coli est retrouvé dans 80-90 % des infections urinaires primaires. Dans l'infection urinaire récidivante E-Coli reste le germe le plus fréquent (72,1 %), suivi de Klebsiella, proteus et rarement de pseudomonas. Une très grande variété d'antigène O d'E-Coli peut être rencontrée toutefois les sérotypes 1, 2, 4, 6, 7, 25, 50 et 75 totalisent le 78 % des souches typisables. Les résultats de plusieurs travaux concordent en retrouvant le plus fréquemment le sérotype 06, suivi de 01 et 075 (24). On retrouve cette même distribution lors des récidives. La sérotypisation a montré que la plupart des récidives

étaient dues à un sérotype différent.

Il est intéressant de noter que dans une série de 343 écolières présentant une bactériurie asymptomatique, Lindberg et Coll. ont retrouvé une distribution assez comparable. Il n'existe actuellement aucune explication satisfaisante permettant de comprendre pourquoi certaines souches d'E-Coli sont plus fréquemment retrouvées que d'autres. En effet, selon Vosti (46), il n'a pas été possible de mettre en évidence de différences biologiques soit, utilisation des hydrates de carbones, production de colicines, résistance aux agents anti-microbiens, etc ... entre les différentes souches.

Le rôle joué par l'appareil immunitaire dans la récurrence d'infection urinaire a été étudié à l'aide de différentes techniques (1, 10, 11, 12, 16, 30, 45). La majeure partie des recherches a porté sur la présence d'anticorps circulants. Il s'agit là d'une détermination qui fournit plus une information symptomatique qu'explicative. En effet, Holmgren (16) parmi plusieurs autres auteurs (14, 30) démontre la signification des anticorps circulants lors de l'atteinte pyélonéphritique, alors que le titre d'anticorps est peu élevé ou absent dans le cas de l'atteinte urinaire basse.

Une autre voie de recherche fructueuse consiste en l'étude des mécanismes locaux de défense en cas d'infection. Il s'agit ici surtout de travaux expérimentaux

qui tendent à démontrer l'importance de la synthèse locale d'anticorps spécifiques, particulièrement d'IgA_s (27, 36).

Dans ce travail, l'approche de l'analyse immunologique des infections urinaires récidivantes de la petite fille a consisté en l'application simultanée de plusieurs techniques interrogeant à la fois l'appareil immunologique général et l'appareil immunologique local. Dans une première phase, la quantité des immunoglobulines contenues dans les urines a été déterminée. Les immunoglobulines G et A sont présentes dans les deux collectifs, toutefois le taux en est nettement plus élevé chez les patientes atteintes d'infection urinaire récidivante. Si l'on mesure spécifiquement les IgA_s, on note également une très nette différence en faveur des patientes atteintes d'infection. Ces résultats confirment les observations d'Uehling et Coll. (45), lesquels notent une étroite corrélation entre le taux d'IgA_s et le degré d'infection. Si l'on soustrait, dans ce travail, les taux d'IgA_s du taux global d'IgA, on aboutit à la conclusion que le pourcentage d'IgA_s ne représente qu'environ 15 % du total des IgA. Ce taux est toutefois légèrement supérieur dans le groupe des patientes infectées par rapport au groupe contrôle. A noter que les IgM ne sont présentes que d'une manière inconstante et ceci à un taux très bas dans les deux groupes de sujets. Ce résultat contraste avec ceux observés lors d'infections urinaires expérimentales dans lesquelles une notable production d'anticorps de type IgM est notée.

Enfin, en confirmation des résultats publiés par Ozkaragoz et Coll. (33), et Turner et Coll. (43) chez toutes les fillettes nous avons la présence de taux mesurable d'IgE dans les urines. Cependant, la différence entre le collectif de patientes et celui des sujets contrôle n'est pas significative. En revanche, les valeurs d'IgE sériques sont nettement plus basses chez les petites patientes par rapport au groupe témoin, fait curieux pour lequel nous n'avons pas trouvé d'explication. L'hypothèse d'une excrétion urinaire accrue serait intéressante à vérifier avec peut-être une analyse de l'activité anticorps spécifique.

Jusqu'ici, la détermination d'anticorps spécifique dans les infections urinaires chroniques a été réalisée surtout au moyen de la technique d'hémagglutination indirecte. Cette technique a le mérite d'être très sensible et de permettre une analyse sérologique de souche, surtout par le moyen du test d'inhibition de l'hémagglutination. Toutefois, en raison de la présence fréquente d'antigénicité croisée O et K, cette technique n'est pas à toute épreuve. De plus, la classe à laquelle appartiennent les anticorps n'apparaît pas clairement (29).

La technique d'immunofluorescence a été appliquée à ce jour au diagnostic d'un très grand nombre d'infections. Une excellente mise au point a été publiée par Danielsson et Laurell (9) concernant les E-Coli entéropathogènes. Une technique directe a été appliquée par Thomas et Coll.

(39) utilisant la fixation d'anticorps provenant des patientes sur les souches bactériennes analysées pour la mise en évidence d'anticorps spécifiques. Nous avons appliqué une technique assez comparable, utilisant les anticorps présents dans les urines pour enrober les bactéries d'une souche de E-Coli 075. Le titre obtenu par dilution des urines a été révélé au moyen d'un sérum fluorescent anti-IgG et anti-IgA. Les résultats ne montrent pas de différence significative entre le collectif des patientes et celui des sujets contrôle.

Dans nos deux collectifs, les anticorps sériques spécifiques dirigés contre la souche E-Coli 075 sont du même ordre de grandeur. Ces résultats vont dans le sens des observations de Thomas et Coll. (39) qui ont montré l'existence d'anticorps sériques dirigés contre un mélange des 8 souches d'E-Coli les plus fréquemment retrouvées dans les infections urinaires chez des fillettes infectées. Ces auteurs notent par ailleurs une corrélation excellente entre le taux d'anticorps sériques et urinaires dirigés contre les bactéries pathogènes mises en évidence dans l'urine.

En revanche, lorsque le test d'immunofluorescence direct est pratiqué au moyen d'un sérum anti-IgA_s et ceci sur des bactéries cultivées à partir de l'urine des patientes, le titre des anticorps est notablement plus élevé que celui observé avec la souche 075. Ce résultat suggère un rôle particulièrement important pour les IgA_s dans l'élimination immune des souches pathogènes.

Utilisant la technique ELISA, Jodal et Coll.

(18) démontrent la présence d'anticorps contre les antigènes O de type IgA dans les urines de sujets infectés ou non, alors que ceux-ci sont absents dans le sérum. La présence d'anticorps anti-pièce sécrétoire suggère qu'il s'agit bien d'anticorps synthétisés localement. Toutefois, il faut relever ici que dans cette étude, le titre d'anticorps anti-pièce sécrétoire est moins élevé que celui des anticorps de type IgA. La filtration d'anticorps sérique de ce type pourrait expliquer cette discrédance ou éventuellement un passage direct d'IgA monomérique de la sous-muqueuse.

Selon Norden (31), la muqueuse vésicale elle-même semble posséder un pouvoir bactéricide élevé. La nature de ce mécanisme n'est actuellement pas encore élucidé, bien que les travaux de Cobbs (7) semblent démontrer que cette fonction pourrait être due à la phagocytose bactérienne par les leucocytes polynucléaires.

La phagocytose est une fonction normale des polynucléaires, cette fonction est nettement augmentée en présence de facteurs sériques et particulièrement en présence d'anticorps et de facteurs du complément (20).

Nous avons étudié la fonction phagocytaire des polynucléaires stimulés par des Coli traités préalablement soit avec du sérum ou de l'urine provenant de nos deux collectifs. Aussi bien mis en présence de la souche 075 que de E-Coli cultivés à partir des urines, aucune diffé-

rence de l'activité opsonisante des anticorps n'est observée entre le groupe de patientes et le groupe de sujets témoins. A noter que l'absorption du sérum ou de l'urine par un sérum anti-IgG élimine presque totalement la capacité d'opsonisation de ces deux liquides biologiques. Nos résultats suggèrent que les anticorps de type IgG ne jouent qu'un rôle mineur dans l'activation de la capacité phagocytaire des polynucléaires. Ils fournissent un argument supplémentaire en faveur d'une fonction anti-bactérienne non opsonisante des IgA, en particulier des IgA_S, dans le processus d'élimination des bactéries responsables d'infection urinaire basse.

Analysant la littérature médicale consacrée aux infections urinaires récidivantes, une lacune apparaît immédiatement. En effet, aucune analyse n'a été consacrée à la réponse immune cellulaire et ceci est particulièrement évident dans l'excellente revue consacrée à ce sujet par Holmgren et Smith (16).

Nous avons tout d'abord analysé la réponse des lymphocytes du sang à un mitogène, la phytohemagglutinine (PHA) qui stimule spécifiquement les lymphocytes T. Malgré une dispersion importante des résultats, dans les deux collectifs, toutes les valeurs observées sont à l'intérieur des limites considérées comme normales. Concernant la réponse aux quatre antigènes testés, soit : tuberculine, streptokinase-streptodornase, et endotoxines de E-Coli, le pourcentage de tests positifs est du même ordre de grandeur dans les deux collectifs. Il est intéressant de noter que la réponse aux endotoxines n'est pas plus élevée chez les sujets

avec infection urinaire et ceci malgré un contact prolongé avec ce constituant bactérien. En revanche, une réponse positive à *Candida albicans* a été notée chez 50 % des enfants avec infection urinaire alors que le pourcentage n'était que de 22 % dans le groupe témoin. L'interprétation de ce résultat n'est pas claire. Toutefois, il serait intéressant de faire systématiquement une recherche de candidiase vaginale ou fécale chez les petites filles avec infection urinaire récidivante. Il est fortement probable que là est la source de cette sensibilisation systémique à *Candida Albicans*.

Ces quelques tests très préliminaires semblent démontrer l'absence d'altération de la réponse immune cellulaire du moins dans notre collectif restreint de patientes. A ce stade, il serait intéressant d'observer s'il existe une réponse lymphocytaire in vitro aux souches d'E-Coli mises en évidence dans la culture d'urines.

RESUME ET CONCLUSION

Dans cette étude, l'analyse de facteurs immunologiques chez des petites filles présentant une infection urinaire basse récidivante a été entreprise. Il apparaît bien évident que toute malformation de l'appareil urinaire ou anomalie fonctionnelle du type résidu vésical ou reflux vésico-urétéral favorise pour des raisons mécaniques, le développement d'infection récidivante.

Une analyse des facteurs immunologiques nous a paru justifiée chez des patientes ne présentant aucune anomalie. Dans quelle mesure, dans ce cas, un facteur lié à l'hôte peut-il expliquer la récurrence des infections ? Les résultats de cette investigation sont confrontés à ceux obtenus dans un groupe témoin en bonne santé. Ils montrent que dans le groupe des infections urinaires :

- les immunoglobulines G et A sont présentes dans les urines à des concentrations nettement plus élevées que chez les témoins. Cette augmentation porte non seulement sur les IgA totales, mais aussi sur les IgA_s. En revanche, il n'y a pas de différence en ce qui concerne les IgE et les IgM, ces dernières étant présentes d'une manière inconstante.

- en ce qui concerne les immunoglobulines sériques il n'y a pas de différence entre les deux groupes.

- la recherche d'anticorps spécifiques, par immunofluorescence, dirigés contre une souche d'E-Coli 075 arbitrairement choisie ne met en évidence aucune différence entre les deux collectifs de sujets. En revanche, lorsque le test d'immunofluorescence directe est pratiqué au moyen d'un sérum IgA et ceci sur des bactéries cultivées à partir de l'urine des patientes, le titre des anticorps est nettement plus élevé que celui observé avec la souche E-Coli 075.

- les titres d'anticorps sériques dirigés contre E-Coli 075 sont du même ordre de grandeur dans les deux groupes. Quant à ceux dirigés contre les bactéries cultivées à partir des urines infectées, ils sont présents chez toutes les patientes à des titres comparables.

- la recherche d'anticorps opsonisants (IgG) dans les urines et le sérum ne montre pas de différence entre les deux collectifs, qu'il s'agisse d'anticorps anti E-Coli 075 ou contre les bactéries des urines infectées.

- Enfin, la stimulation lymphocytaire à la phytohémagglutinine donne des valeurs situées dans les limites normales pour les deux groupes de sujets. La réponse in vitro à quatre antigènes est relativement comparable dans les deux groupes, à l'exception du candida albicans. En effet, le pourcentage de réponse positive à cet antigène est nettement plus élevé chez les patientes présentant une

infection urinaire récidivante.

Ces données, bien que fragmentaires, démontrent une absence d'éléments déficitaires de la réponse immune. Au contraire, il semble que l'infection suscite une réponse immune vigoureuse et spécifique, faite en majeure partie d'anticorps de type IgA_s. Toutefois, cette bonne réponse immune n'est pas capable de contrôler l'infection ni d'empêcher l'apparition de récidives, on peut imaginer cependant que c'est grâce à cette réponse immunologique que l'infection reste le plus souvent dans les limites du système urinaire.

BIBLIOGRAPHIE

- 1 - Andersen, H.J. : Antibody response in urinary tract infection.
Acta Paediat. Scand. Supp. 180 : 8-28 (1968)
- 2 - Ahlstedt, S & Kaijser, B. : Experimental E-Coli 06 pyelonephritis in rabbits. Immunology 28 : 841 (1975)
- 3 - Asscher, A.W. : Clinical significance of asymptomatic bacteriuria in : Pyelonephritis, vol. 111, 199 (Thieme, Stuttgart, 1972).
- 4 - Bergström, T., Larsson, H., Lincoln, K. & Winberg, J. Studies of UTI in infancy and childhood : eighty consecutive patients with neonatal infection.
J. Pediat. 80 : 858 (1972)
- 5 - Brandtzaeg, P. : Conjugates of immunoglobulin G with different fluorochromes. 1 : Characterization by anionic exchange chromatography.
Scand. J. Immunol. 2 : 273 (1973)
- 6 - Brown, W.R., Newcomb, R.W., Ishikawa, K. : Proteolytic degradation of exocrine and serum immunoglobulins.
J. Clin. Invest. 49 : 1374 (1970)
- 7 - Cobbs, C.G. & Kaye, D. : Antibacterial mechanisms in the urinary bladder. Yale J. Biol. Med.
40 : 93 (1967)
- 8 - Cox, C.E., Lacy, S.S. & Hinman, F. Jr. : The urethra and its relationship to urinary tract infection : 11. The urethral flora of the female with recurrent urinary infection. J. Urol. 99 : 632 (1968)

- 9 - Danielson, D. & Laurell, G. : The fluorescent antibody technique in the diagnosis of enteropathogenic E-Coli.
Acta Path. Microbiol. Scand. 76 : 601 (1969)
- 10 - Engvall, E. & Perlmann, P. : Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) 111. Quantitation of specific antibodies by enzyme labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes. J. Immunol. 109 : 129 (1972)
- 11 - Feldman, B.H., Herdman, R.W. & Hong, R. : Local immunomechanisms of the urinary tract. Urol. 8 : 575 (1971)
- 12 - Freedman, L.R., Andride, V.T. : A long term study of women with urinary tract infections. In : Abstracts of the Fourth International Congress of Nephrology. 1 : 386 (1969)
- 13 - Hand, W.L., Smith, J.W., Miller, T.E., Barnett, J.A. & Sanford, J.P. : Immunoglobulins synthesis in lower urinary tract infection.
J. Lab. Clin. Med. 75 : 19 (1970)
- 14 - Hewstone, A.S. & Whitaker, J. : The correlation of ureteric urine bacteriology and homologous antibody titer in children with urinary infection.
J. Pediat. 74 : 540 (1969)
- 15 - Hinman, F. Jr. : Mechanisms for the entry of bacteria and the establishment of urinary infection in female children. J. Urol. 96 : 546 (1966)
- 16 - Holmgren, J. & Smith, J.W. : Immunological aspects of urinary tract infections. Progr. Allergy 18 : 289 (1975)

- 17 - Jodal, U. : The immune response to urinary tract infections in children. 1. Serological diagnosis of primary symptomatic infection in girls by indirect hemagglutination.
Acta Paediat. Scand. 64 : 96 (1975)
- 18 - Jodal, U., Ahlstedt, S., Carlsoon, B., Hansson, L.A., Lindberg, U. & Sohl, A. : Local antibodies in childhood urinary tract infection. A preliminary study.
Int. Arch. Allergy. 47 : 537 (1974)
- 19 - Jones, S.A., Smith, J.W., Sanford, J.P. : Localization of UTI by detection of antibody-coated bacteria in urine sediment. N. Eng. J. Med. 290 : 591 (1974)
- 20 - Johnston, R.B., Klemperer, M.R., Alper, C.A., Rosen, F.S. : The enhancement of bacterial phagocytosis by serum. J. Exp. Med. 129 : 1275 (1969)
- 21 - Kass, E.H. : Asymptomatic infections of the urinary tract. Trans. Amer. Ass. Phys. 69 : 56 (1956)
- 22 - Kunin, C.M. : A ten-year study of bacteriuria in school-girls : Final report of bacteriologic, urologic and epidemiologic findings. Jour. Inf. Dis. 122 : 1443 (1970)
- 23 - Kunin, C.M. : The natural history of recurrent bacteriuria in school-girls. N. Engl. J. Med. 282 : 1443 (1970)
- 24 - Lindberg, U., Bjure, J., Haugstredt, S. & Jodal, U. : Asymptomatic bacteriuria in school-girls. 1. Clinical and Laboratory findings. Acta Paediat. Scand. 64 : 425 (1975)

- 25 - Lindberg, U., Bjure, J., Haugstred, S. & Jodal, U. :
Relation between residual urine volume and recurrence.
Acta Paediat. Scand. 64 : 437 (1975)
- 26 - Lindblad, B.S. & Ekengren, K. : The long-term prognosis of non-obstructive UTI in infancy and childhood after the advent of sulphonamides. Acta Paediat. Scand. 58 : 25 (1969)
- 27 - Lehmann, J.D., Smith, J.W., Miller, T.E., Barnett, L.A. & Sanford, J.P. : Local immune response in experimental pyelonephritis.
J. Clin. Invest. 47 : 2 541 (1968)
- 28 - Mayo, M.E., Hinman, F. Jr. : Role of mid-urethral high pressure zone in spontaneous bacterial ascent.
J. Urol. 109 : 268 (1973)
- 29 - Mc Cabe, W.R., Kreger, B.E. & Johns, M. : Type-specific and crossreactive antibodies in gram-negative bacteriemia.
N. Engl. J. Med. 287 : 261 (1972)
- 30 - Needell, M.H., Neter, E., Staubitz, W.J. & Bingham, W.A. . The antibody (hemagglutinin) response of patients with infections of the urinary tract.
J. Urol. 74 : 674 (1955)
- 31 - Norden, C.W., Green, C.M. & Kass, E.H. : Antibacterial mechanisms of the urinary bladder.
J. Clin. Invest. 47 : 2 689 (1968)

- 32 - O'Grady, F.W., Richards, B., Mc Sherry, M.A.,
O'Farrell, S.M. & Cattell, W.R. : Introital entero-
bacteria, urinary infection and the urethral syndrome.
Lancet 2 : 1208 (1970)

- 33 - Ozkaragoz, K., Smith, H.J. & Gökçen, M. : IgE levels
in serum, saliva and urine of normal individuals.
Acta Allergologica 27 : 392 (1972)

- 34 - Sanford, J.P., Hunter, B.W. & Souda, L.L. : The role
of immunity in the pathogenesis of experimental
hematogenous pyelonephritis.
J. Exp. Med. 115 : 383 (1962)

- 35 - Smallpiece, W. : UTI in childhood and its relevance
to disease in adult life. Heinemann medical books,
London (1968)

- 36 - Smith, J.W., Hand, W.L., Sanford, J.P. : Local
synthesis of secretory IgA in experimental pyelone-
phritis.
J. Immunol. 108 : 867 (1972)

- 37 - Smith, J.W. : Local cellular response in experimental
pyelonephritis.
Scand. J. Immunol. 2 : 457 (1973)

- 38 - Stamey, T.A., Fair, W.R., Timoth, M.M. & Chung, H.K. :
Antibacterial nature of prostatic fluid.
Nature (lond) 218 : 444 (1968)

- 39 - Thomas, U., Shelokov, A. & Forland, M. : Antibody-
coated bacteria in the urine and the site of urinary
tract infection.
N. Engl. J. Med. 290 : 588 (1974)

- 40 - Tomasi, T.B. : Secretory immunoglobulins.
N. Engl. J. Med. 287 : 500 (1972)
- 41 - Tourville, D.R., Adler, R.H., Bienenstock, J. &
Tomasi, T.B. : The human secretory immunoglobulin
system. Immuno-histological localisation of IgA,
secretory piece and lactoferrin in normal human
tissues,
J. Exp. Med. 129 : 411 (1969)
- 42 - Turner, M.W. & Rowe, D.S. : Antibodies of IgA and
IgG class in normal human urine.
Immunology 12 : 689 (1967)
- 43 - Turner, M.W., Johansson, S.G., Barnett, T.M. &
Bennich, H. : Studies on the levels of immunoglobulins
in normal human urine with particular reference to
IgE. Int. Arch. Allergy 37 : 409 (1970)
- 44 - Turner, M.W. & Rowe, D.S. : Antibodies of IgA and
IgG class in normal human urine. Immunology 12 :
689 (1967)
- 45 - Uehling, D.T. & Steihm, E.R. : Elevated urinary
secretory IgA in children with urinary tract infection.
Pediatrics 47 : 40 (1971)
- 46 - Vosti, K.L. : Biologic characterization of Escherichia
Coli commun versus uncommun serogroups. In :
Urinary infections in the male, pp 101-116.
- 47 - Waldmann, R.H. & Ganguly, R. : Immunity to infections
on secretory surfaces.
J. Inf. Dis. 130 : 419 (1974)

48 - Wharton, L.R., Gray, L.A. & Gmild, H.G. : The late effects of acute pyelitis in girls. J.A.M.A. 109 : 1 595 (1937).

